

DAFTAR ISI

Tanggap Tanaman Padi Gogo terhadap Pengurangan Nitrogen An Organik yang Disubsitusi dengan <i>Tithonia diversifolia</i> . (Bilman W. Simanihuruk, Kasli, Edi Farda Husin dan Auzar Syarif) .....	100
✓ Seleksi Promer RAPD untuk Ketahanan terhadap CMV: Penggunaan Strategi BSA (bulk segregant analysis). (Rustikawati, Catur Herison, Eliyanti dan Sudarsono) .....	108
Pengaruh Konsentrasi Kolkhisin dan Lama Perendaman terhadap Pertumbuhan dan Produksi Mentimun. (Diana Sofia, Luthfi AM Siregar, dan Joko Handoko Hadi Prasetyo) .....	115
Uji Kesesuaian Lahan pada Dua Zona Agroekologi untuk Usahatani Cabai Merah Keriting. (Bariot Hafif dan Nila Wardani) .....	120
Respon Pemekaran Bunga dan Produksi <i>Java Coffee</i> ( <i>Coffea arabica</i> L.) terhadap Penambahan Air Selama Priode Kritis Kekeringan di Tanah Andisol. (T. Sutikto) .....	128
Hubungan Antara Nilai Tetua, Daya Gabung dan Heterosis Hasil Persilangan Dialel Kedelai ( <i>Glycine max</i> L.) pada Ultisol. (Suprpto dan Narimah Md Kairudin) .....	136
Evaluation of Mung Bean Genotypes Possessing Different Seed Coat Characteristic for Resistance to Field Weathering. (Marwanto) .....	142
Karakterisasi Sifat-sifat Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Tanaman Kako ( <i>Theobroma cacao</i> L.) Berproduksi Tinggi. (Muhammad Taufik, Gustian, Auzar Syarif, dan Irfan Suliansyah) .....	150
Mekanisme Antagonistik Bakteri terhadap Patogen <i>Phytophthora parasitica</i> var. <i>nicotianae</i> Penyebab Penyakit Lanas Tanaman Tembakau. (Dyah Roeswitawati dan Erny Ishartati) .....	156
Respon Berbagai Tipe Eksplan Biji Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.) pada Beberapa Konsentrasi <i>Benzil Amino Purin</i> (BAP) terhadap Pembentukan dan Regenerasi Polyembrioninya Secara In Vitro. (Afra Romeida) .....	162
Pembentukan Umbi Kentang ( <i>Solanum tuberosum</i> ) pada Beberapa Media Pertumbuhan dan Lama Penyinaran. (Warnita) .....	167
Seleksi Primer RAPD dan Studi Kekerabatan <i>Capsicum</i> sp. Koleksi dari Sumatera Barat. (Jamsari, Darusalam, R. Syahlena, M., Syaputra, R., Darnetty, dan Putri, N.E.) .....	172
Pengaruh Optimalisasi Bibit dan Input Pupuk Kandang Ayam terhadap Pertumbuhan Vegetatif Padi. (Masdar) .....	182
Prediksi Waktu Panen Tanaman Pulai ( <i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.) dengan Analisis Model Pertumbuhan. (Edi Suharto) .....	190



## Seleksi Primer RAPD untuk Ketahanan terhadap CMV: Penggunaan Strategi BSA (*bulk segregant analysis*)

### *Selection of RAPD primers for CMV resistance gene(s): BSA strategy*

Rustikawati<sup>1)</sup>, Catur Herison<sup>1)</sup>, Eliyanti<sup>2)</sup>, dan Sudarsono<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan BDP Faperta Unib, Jl. Raya Kandang Limun Bengkulu 38371

<sup>2)</sup>Dept. Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.

<sup>3)</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB, Jl. Meranti, Darmaga, 16680  
catur\_herison@yahoo.com

### ABSTRACT

RAPD primers selection have to be done in order to identify RAPD markers linkage with CMV resistance on hot pepper (*Capsicum* sp). The objective of this research was to identify RAPD markers polymorphic with CMV resistance through bulk segregant analysis (BSA) approach. Random primers used in this research were 120 primers from six operon groups, they were OPA, OPC, OPE, OPF, OPH and OPM. The mapping population was generated from a cross of a *Capsicum annum* resistant genotype (C1024) x a susceptible *C frutescens* genotype. The DNA of the most resistant and susceptible F2 plants were pooled respectively and amplified with the random primers. The result showed that out of 120 random primers, 25 primers showed polymorphism on resistant versus susceptible pool DNA. They were OPA-7, OPA-13, OPA-15, OPA-20, OPC-4, OPC-5, OPC-6, OPC-8, OPE-1, OPE-6, OPE-7, OPE-12, OPE-14, OPF-6, OPH-3, OPH-5, OPH-10, OPH-12, OPH-13, OPH-18, OPM-7, OPM-18, and OPM-20.

**Keyword:** RAPD, CMV, BSA, *Capsicum*

### PENDAHULUAN

'Cucumber Mosaic Virus' (CMV) diketahui merupakan virus terpenting yang menyerang tanaman cabai (Duriat, 1996). Alternatif terbaik untuk mengatasi kerugian akibat serangan CMV adalah dengan kultivar tahan. Ketahanan terhadap CMV pada tanaman cabai dikendalikan oleh gen resesif sederhana, dan tidak ada pengaruh tetua betina (Herison *et al.*, 2004). Oleh karena itu metode pemuliaan konvensional untuk perakitan kultivar tahan CMV memerlukan yang waktu lama.

Salah satu alternatif teknologi yang mampu mempercepat program pemuliaan tanaman adalah dengan memanfaatkan teknologi marka molekuler. Beberapa tahun terakhir, penanda RAPD banyak digunakan sebagai alat dalam aplikasi genetika. Penanda RAPD dihasilkan melalui proses amplifikasi DNA menggunakan teknik *polymerase chain reaction*

(PCR). Jika genom tanaman dipakai sebagai templat untuk reaksi PCR, maka DNA genom yang sekuennya sama dengan sekuen random oligonukleotida primer yang orientasinya berlawanan arah (*inverted orientation*) dan yang hanya berjarak beberapa ratus atau ribu pasang basa antara satu dengan yang lain akan teramplifikasi.

Berbagai ukuran potongan DNA hasil amplifikasi akan dapat dengan mudah dipisahkan berdasarkan ukurannya dengan menggunakan teknik elektroforesis dan hasilnya dapat dilihat sebagai pita-pita DNA dengan berbagai ukuran (Griffin and Griffin, 1994).

Metode BSA pada dasarnya adalah suatu strategi untuk mengidentifikasi marka molekuler yang terkait dengan karakter tertentu melalui pembuatan pool DNA dari dua kelompok tanaman yang memiliki tingkat ekspresi karakter yang berlawanan dari populasi yang bersegregasi yang berasal dari satu hibridisasi (Michelmores *et al.*,



1991). Di dalam satu pool, setiap individu memiliki kesamaan karakter atau gen tertentu yang dipelajari, tetapi bervariasi untuk karakter lainnya. Dalam identifikasi marka terkait dengan ketahanan terhadap CMV, pool DNA dibuat dari kelompok individu tahan CMV dan kelompok rentan CMV yang diambil dari *mapping population* generasi F2 dari hibridisasi antara genotipe tahan dan genotipe rentan CMV.

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi marka molekuler yang polimorfik untuk ketahanan terhadap CMV pada tanaman cabai. Marka polimorfik tersebut sangat penting dalam pengembangan penanda molekuler sebagai *marker assisted selection* (MAS) dalam pemuliaan cabai tahan terhadap CMV.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Oktober 2003 di Laboratorium Pusat Studi Pemuliaan Tanaman (PSPT) IPB. Identifikasi marka RAPD polimorfik untuk ketahanan terhadap CMV dilakukan dengan mengamplifikasi pool DNA kelompok individu tahan dan pool DNA kelompok individu rentan dengan menggunakan primer acak. Primer acak dalam studi ini berjumlah 120 primer dari 6 kelompok operon, yaitu OP A, OP C, OP E, OP F, OP H dan

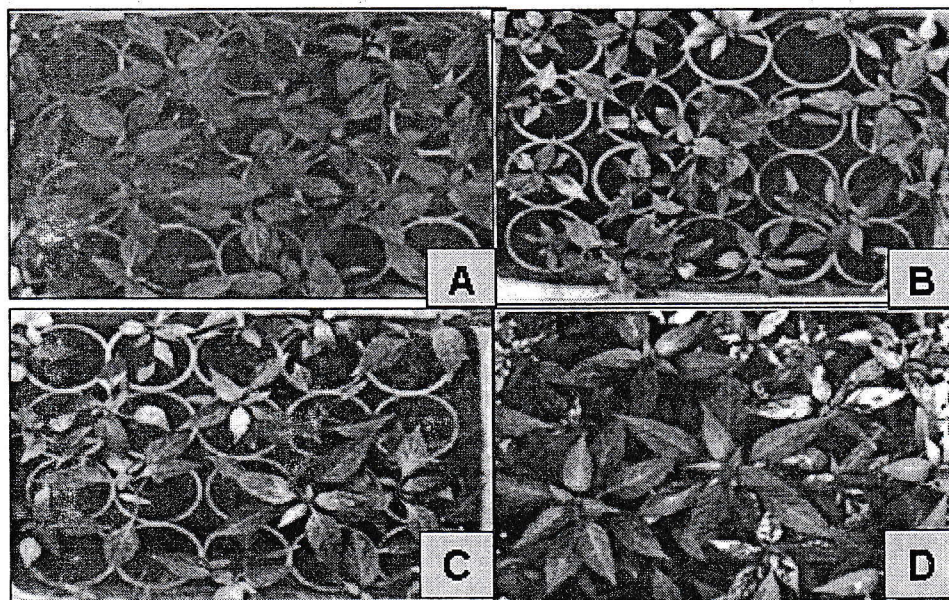
OP M. Masing-masing kelompok terdiri atas 20 primer dengan panjang 10 basa.

## Evaluasi Respon Populasi *Mapping*

Sebanyak 100 tanaman F2 hasil persilangan C 1024 (tahan) X C *frutescens* (rentan) diinfeksi CMV dengan cara inokulasi mekanis dua kali, yaitu saat fase kotiledon, dan fase daun sejati pertama (Green, 1996). Tetua tahan telah diuji selama 2 musim dan menunjukkan sifat konsisten tahan terhadap infeksi CMV (Herison *et al*, 2003). Inokulasi dilakukan dengan cara mengusapkan cairan inokulum pada permukaan daun yang telah ditaburi Carborundum (600 mesh). Muncul tidaknya gejala infeksi CMV pada tanaman yang diinokulasi diamati empat minggu setelah inokulasi. Skoring gejala dilakukan mengikuti Herison (2002).

## Penyiapan DNA

DNA kelompok tanaman F2 yang tahan terhadap CMV (skor 0) dan sangat rentan (skor 5) masing-masing diisolasi mengikuti prosedur dasar yang digunakan oleh Sanghai-Maroo *et al*. (1984). DNA masing-masing masing kelompok selanjutnya digabung secara proporsional berdasarkan tingkat konsentrasi untuk membentuk satu pool DNA.



Gambar 1. Penampilan tanaman setelah diinfeksi CMV. A: populasi C1024, B: populasi C *frutescens*, C: populasi F1 (100% bergejala), D: populasi F2 (segregasi)



### Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA mengikuti metode William *et al.* (1990). Reaksi amplifikasi dilakukan menggunakan 25  $\mu$ L campuran larutan yang terdiri atas: 1 x bufer reaksi (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 9,0; 0,1% Triton X-100), 0,2 mM dNTP, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 unit Taq DNA polimerase (Promega), 50 ng DNA templat dan 0,3  $\mu$ M random primer. PCR dilakukan dengan menggunakan DNA Thermal Cycler PE Gene Amp PCR system 2400. Program PCR yang digunakan adalah: satu siklus pre PCR (94 °C, 2 menit), 45 siklus {denaturasi (94 °C, 30 detik), *annealling* (35 °C, 2 menit), *elongation* (72 °C, 3 menit)}, dan satu siklus stop PCR (72 °C, 3 menit.). Hasil amplifikasi divisualisasi dengan elektroforesis *gel agarose*.

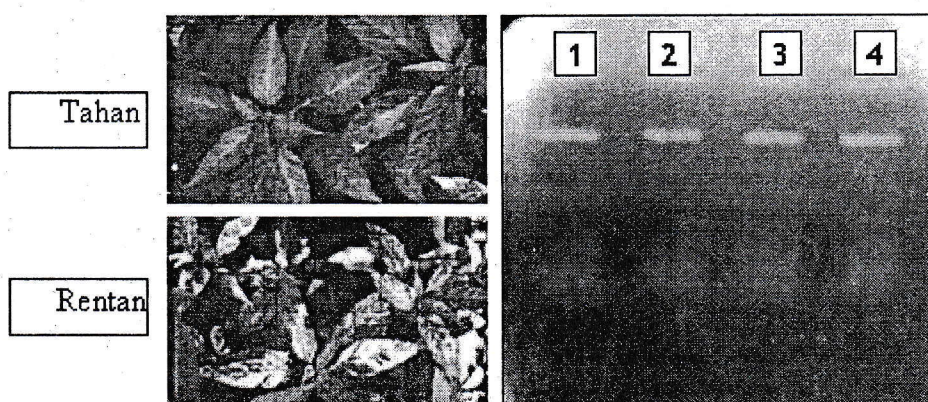
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Evaluasi Respon Populasi Mapping

Pengamatan terhadap gejala pada daun muda F2 populasi *mapping* menunjukkan bahwa dari 100 tanaman yang diamati diperoleh 5 tanaman tidak bergejala dan 95 bergejala. Berdasarkan data tersebut terlihat bahwa populasi *mapping* yang dikembangkan dari persilangan tetua tahan (*C. annuum*) dengan rentan (*C. frutescens*) mengikuti segregasi gen sederhana

(kualitatif) dan resesif. Hasil yang sama diperoleh pada beberapa persilangan *C. annuum* (Herison, 2002) bahwa ketahanan terhadap CMV dikendalikan oleh gen sederhana (1-2 gen) dengan aksi gen resesif. Heritabilitas sifat ketahanan terhadap CMV tanaman cabai (*C. annuum*) persilangan antara Perennial x Yolo Wonder diduga sebesar 0,94 (tinggi) disebabkan karena sifat tersebut dikendalikan oleh gen sederhana (Caranta, 1997). Pengembangan *marker assisted selection* (MAS) dengan pendekatan BSA lebih mudah dan lebih akurat dilakukan terhadap karakter yang dikendalikan oleh simple genic dibandingkan pada karakter *polygenic*.

Visualisasi respon fenotipik terhadap *mapping population* untuk identifikasi gen ketahanan terhadap CMV menunjukkan bahwa pola respon populasi F1 adalah seragam dan bersegregasi pada F2 (Gambar 2). Berdasarkan kuantifikasi gejala dengan skoring pada *mapping population* yang dikembangkan, di antara 95 individu yang bergejala, terdapat 12 tanaman yang memiliki skor 5 (rentan). Dengan demikian maka populasi yang dikembangkan merupakan populasi yang sangat baik untuk studi identifikasi marka terkait ketahanan terhadap CMV melalui strategi BSA. Pada populasi tersebut dapat dibuat pool DNA dari 5 individu tahan dan pool DNA dari 12 individu rentan.



Gambar 2. Pool DNA genotipe tahan (1 dan 3) dan pool DNA rentan (2 dan 4) pada konsentrasi 25 ng mL<sup>-1</sup>



Tabel 1. Hasil analisis PCR dengan primer acak pada pool DNA tahan dan pool DNA rentan

No	PRIMER (OPERON)	Urutan Basa	Jumlah Pita		Keterangan
			Pool DNA Tahan	Pool DNA Rentan	
1	OPA-1	CAGGCCCTTC	2	2	Monomorfik
2	OPA-2	TGCCGAGCTG	2	2	Monomorfik
3	OPA-3	AGTCAGCCAC	0	0	Tidak ada amplifikasi
4	OPA-4	AATCGGGCTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
5	OPA-5	AGGGGTCTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
6	OPA-6	GGTCCCTGAC	0	0	Tidak ada amplifikasi
7	OPA-7	GAAACGGGTG	2	1	Polimorfik tahan
8	OPA-8	GTGACGTAGG	2	3	Polimorfik rentan
9	OPA-9	GGGTAACGCC	2	2	Monomorfik
10	OPA-10	GTGATCGCAG	1	5	Polimorfik rentan
11	OPA-11	CAATCGCCGT	0	3	Polimorfik rentan
12	OPA-12	TCGGCGATAG	0	3	Polimorfik rentan
13	OPA-13	CAGCAGCCAC	2	0	Polimorfik tahan
14	OPA-14	TCTGTGCTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
15	OPA-15	TTCCGAACCC	1	1	Polimorfik tahan
16	OPA-16	AGCCAGCGAA	0	0	Tidak ada amplifikasi
17	OPA-17	GACCGCTTGT	0	0	Tidak ada amplifikasi
18	OPA-18	AGGTGACCGT	0	2	Polimorfik rentan
19	OPA-19	CAAACGTCGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
20	OPA-20	GTTGCGATCC	2	0	Polimorfik tahan
21	OPC-1	TTCCGAGCCAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
22	OPC-2	GTGAGGCGTC	0	0	Tidak ada amplifikasi
23	OPC-3	GGGGGTCTTT	0	0	Tidak ada amplifikasi
24	OPC-4	CCGCATCTAC	2	0	Polimorfik tahan
25	OPC-5	GATGACCGCC	3	2	Polimorfik tahan
26	OPC-6	GAACGGACTC	2	1	Polimorfik tahan
27	OPC-7	GTCCCGACGA	0	0	Tidak ada amplifikasi
28	OPC-8	TGGACCGGTG	1	0	Polimorfik tahan
29	OPC-9	CTCACCGTCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
30	OPC-10	TGTCTGGGTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
31	OPC-11	AAAGCTGCGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
32	OPC-12	TGTCATCCCC	1	1	Monomorfik
33	OPC-13	AAGCCTCGTC	0	0	Tidak ada amplifikasi
34	OPC-14	TGCGTGCTTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
35	OPC-15	GACGGATCAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
36	OPC-16	CACACTCCAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
37	OPC-17	TTCCCCCAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
38	OPC-18	TGAGTGGGTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
39	OPC-19	GTTGCCAGCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
40	OPC-20	ACTTCGCCAC	0	0	Tidak ada amplifikasi
41	OPE-1	CCCAAGGTCC	1	0	Polimorfik tahan
42	OPE-2	GGTGC GGGAA	0	0	Tidak ada amplifikasi
43	OPE-3	CCAGATGCAC	1	1	Monomorfik
44	OPE-4	GTGACATGCC	0	1	Polimorfik rentan
45	OPE-5	TCAGGGAGGT	0	0	Tidak ada amplifikasi
46	OPE-6	AAGACCCCTC	1	0	Polimorfik tahan
47	OPE-7	AGATGCAGCC	2	1	Polimorfik tahan
48	OPE-8	TCACCACGGT	2	3	Polimorfik rentan
49	OPE-9	CTTCACCCGA	2	2	Monomorfik
50	OPE-10	CACCAGGTGA	0	0	Tidak ada amplifikasi
51	OPE-11	GAGTCTCAGG	0	1	Polimorfik rentan



## Lanjutan

No	PRIMER (OPERON)	Urutan Basa	Jumlah Pita		Keterangan
			Pool DNA Tahan	Pool DNA Rentan	
52	OPE-12	TTATCGCCCC	2	0	Polimorfik tahan
53	OPE-13	CCCGATTCCGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
54	OPE-14	TGCGGCTGAG	2	1	Polimorfik tahan
55	OPE-15	ACGCACAACC	1	1	Monomorfik
56	OPE-16	GGTGACTGTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
57	OPE-17	CTACTGCCGT	0	0	Tidak ada amplifikasi
58	OPE-18	GGA CTGCAGA	0	0	Tidak ada amplifikasi
59	OPE-19	ACGGCGTATG	0	0	Tidak ada amplifikasi
60	OPE-20	AACGGTGACC	1	1	Monomorfik
61	OPF-1	ACGGATCCTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
62	OPF-2	GAGGATCCCT	0	0	Tidak ada amplifikasi
63	OPF-3	CCTGATCACC	0	1	Polimorfik rentan
64	OPF-4	GGTGATCAGG	0	1	Polimorfik rentan
65	OPF-5	CCGAATTCCT	0	2	Polimorfik rentan
66	OPF-6	GGGAATTCGG	1	0	Polimorfik tahan
67	OPF-7	CCGATATCCC	0	1	Polimorfik rentan
68	OPF-8	GGGATATCGG	0	1	Polimorfik rentan
69	OPF-9	CCAAGCTTCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
70	OPF-10	GGAAGCTTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
71	OPF-11	TTGGTACCCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
72	OPF-12	ACGGTACCAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
73	OPF-13	GGCTGCAGAA	0	0	Tidak ada amplifikasi
74	OPF-14	TGCTGCAGGT	0	0	Tidak ada amplifikasi
75	OPF-15	CCAGTACTCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
76	OPF-16	GGAGTACTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
77	OPF-17	AACCCGGGAA	0	0	Tidak ada amplifikasi
78	OPF-18	TTCCCGGGTT	0	0	Tidak ada amplifikasi
79	OPF-19	CCTCTAGACC	0	0	Tidak ada amplifikasi
80	OPF-20	GGTCTAGAGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
81	OPH-1	GGTCGGAGAA	0	0	Tidak ada amplifikasi
82	OPH-2	TCGGACGTGA	0	0	Tidak ada amplifikasi
83	OPH-3	AGACGTCCAC	2	1	Polimorfik tahan
84	OPH-4	GGAAGTCGCC	2	2	Monomorfik
85	OPH-5	AGTCGTCCCC	3	2	Polimorfik tahan
86	OPH-6	ACGCATCGCA	0	0	Tidak ada amplifikasi
87	OPH-7	CTGCATCGTG	1	1	Monomorfik
88	OPH-8	GAAACACCCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
89	OPH-9	TGTAGCTGGG	1	1	Monomorfik
90	OPH-10	CCTACGTAC	1	0	Polimorfik tahan
91	OPH-11	CTTCGCGAGT	1	1	Monomorfik
92	OPH-12	ACGCGCATGT	2	1	Polimorfik tahan
93	OPH-13	GACGCCACAC	1	0	Polimorfik tahan
94	OPH-14	ACCAGGTTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
95	OPH-15	AATGGCGCAG	1	1	Monomorfik
96	OPH-16	TCTCAGCTGG	2	1	Polimorfik tahan
97	OPH-17	CACTCTCCTC	1	0	Polimorfik tahan
98	OPH-18	GAATCGGCCA	1	0	Polimorfik tahan
99	OPH-19	CTGACCAGCC	1	1	Monomorfik
100	OPH-20	GGGAGACATC	0	0	Tidak ada amplifikasi
101	OPM-1	GTTGGTGGCT	1	1	Monomorfik
102	OPM-2	ACAACGCCTC	0	0	Tidak ada amplifikasi



*Lanjutan*

No	PRIMER (OPERON)	Urutan Basa	Jumlah Pita		Keterangan
			Pool DNA Tahan	Pool DNA Rentan	
103	OPM-3	GGGGGATGAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
104	OPM-4	GGCGGTTGTC	0	0	Tidak ada amplifikasi
105	OPM-5	GGGAACGTGT	0	0	Tidak ada amplifikasi
106	OPM-6	CTGGGCAACT	1	1	Monomorfik
107	OPM-7	CCGTGACTCA	2	0	Polimorfik tahan
108	OPM-8	TCTGTTCCCC	0	0	Tidak ada amplifikasi
109	OPM-9	GTCTTGCGGA	0	0	Tidak ada amplifikasi
110	OPM-10	TCTGGCGCAC	1	1	Monomorfik
111	OPM-11	GTCCACTGTG	0	0	Tidak ada amplifikasi
112	OPM-12	GGGACGTTGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
113	OPM-13	GGTGGTCAAG	0	0	Tidak ada amplifikasi
114	OPM-14	AGGGTCGTTT	0	0	Tidak ada amplifikasi
115	OPM-15	GACCTACCAC	0	1	Polimorfik rentan
116	OPM-16	GTAACCAGCC	1	1	Monomorfik
117	OPM-17	TCAGTCCGGG	0	0	Tidak ada amplifikasi
118	OPM-18	CACCATCCGT	1	0	Polimorfik tahan
119	OPM-19	CCTTCAGGCA	0	1	Polimorfik rentan
120	OPM-20	AGGTCTTGGG	2	0	Polimorfik tahan

**Seleksi Primer RAPD**

Masing-masing tanaman tahan dan rentan diisolasi DNA. Pada kedua kelompok tersebut dilakukan *pooling* DNA berdasarkan konsentrasi DNA secara proporsional. Visualisasi kualitas pool DNA pada konsentrasi 25 ng L<sup>-1</sup> (Gambar 2). Kedua pool DNA tersebut selanjutnya digunakan sebagai template dalam seleksi primer RAPD untuk ketahanan terhadap CMV.

Berdasarkan hasil amplifikasi terhadap pool DNA tahan dan pool DNA rentan menggunakan 120 primer acak diperoleh bahwa terdapat 59 primer yang dapat mengamplifikasi DNA pool tahan maupun rentan (Tabel 1). Pada teknik RAPD, berhasil tidaknya primer mengamplifikasi suatu genom sangat ditentukan oleh sekuen basa yang dimiliki oleh primer tersebut yang menentukan *primer binding* pada genom (Micheltore *et al.*, 1991).

Di antara 59 primer yang mampu mengamplifikasi DNA, 25 primer menghasilkan pita polimorfik pada pool DNA tahan, 15 primer polimorfisme pada pool rentan, dan 18 primer monomorfik. Primer yang menghasilkan polimorfisme pada pool tahan tersebut merupakan kandidat primer yang menghasilkan pita terkait

untuk ketahanan terhadap ketahanan terhadap CMV karena ada peluang yang sangat besar bahwa marka yang dihasilkan terpaut dengan gen pengendali karakter tersebut. Marker yang polimorfik antara dua pool DNA yang dikonstruksi dari satu hibridisasi secara genetik akan terpaut dengan lokus yang digunakan untuk menentukan konstruksi pool DNA (Micheltore *et al.*, 1991). Peneliti lain juga menggunakan dasar polimorfisme pada pool DNA dalam eksplorasi penanda molekuler. Lefebvre *et al.* (1995) menggunakan marker molekuler RAPD dan RFLP untuk menguji keterpautan intraspesifik pada cabai dan tomat. Dari 66 random primer yang diuji terdapat 24 primer yang terjadi amplifikasi. Dibandingkan dengan RFLP, RAPD 1,5 kali lebih banyak polimorfisme.

Namun demikian penelitian dan analisis lebih lanjut masih perlu dilakukan untuk menghasilkan genetic linkage map untuk ketahanan terhadap CMV sehingga dapat ditentukan secara lebih akurat marka molekuler penanda ketahanan terhadap CMV. Hasil penelitian ini merupakan sebagian kecil hasil awal yang akan digunakan dalam pembuatan genetic linkage map tersebut.



## KESIMPULAN

Dari 120 primer yang diuji diperoleh 25 primer acak yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keterkaitan marka DNA dengan ketahanan terhadap CMV. Ke-25 primer tersebut adalah OPA-7, OPA-13, OPA-15, OPA-20, OPC-4, OPC-5, OPC-6, OPC-8, OPE-1, OPE-6, OPE-7, OPE-12, OPE-14, OPF-6, OPH-3, OPH-5, OPH-10, OPH-12, OPH-13, OPH-18, OPM-7, OPM-18, dan OPM-20.

## SANWACANA

Penelitian ini merupakan bagian dari RUT IX yang dibiayai oleh Kementerian Riset dan Teknologi RI. Terima kasih juga disampaikan kepada AVRDC yang telah berkontribusi bahan dasar asesi cabai merah sehingga dapat diseleksi dan dihasilkan genotipe cabai tahan terhadap CMV, kepada Balai Penelitian Sayuran (Balitsa) Lembang atas kontribusi inokulum virus CMV 02 untuk agen penguji, serta kepada PSPT-IPB dan PAU-IPB atas ijin penggunaan laboratorium selama penelitian ini berlangsung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Caranta, C., A. Palloix and V. Lefebvre. 1997. QTLs for a component of partial resistance to cucumber mosaic virus in pepper : restriction of virus installation in host-cells. *Theor Appl Genet* 94: 431-438
- Duriat, A.S. 1996. Management of pepper viruses in Indonesia: problem and progress. *IARD J.* 18(3): 45-50
- Green, S.K. 1996. Viruses of pepper other than leaf curl virus. *Protocol of creening Virus Resistance on Pepper*. AVRDC.
- Griffin, H., and A. Griffin. 1994. *PCR Technology, current innovations*. CRC press. London
- Herison, C, Rustikawati dan Sudarsono. 2004. *Kajian genetik ketahanan terhadap MV*

pada cabai merah persilangan C1037 x CA80867 dan C1043 x CA80867. *Prosiding Simposium Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia Bogor* 5 – 7 Agustus 2004

- Herison, C. 2002. *Pola Pewarisan Karakter Ketahanan dan Toleransi terhadap Cucumber Mosaic Virus' (CMV) pada Cabai Merah*. Disertasi. Program Pascasarjana Unpad.
- Herison, C., Rustikawati, dan Sudarsono. 2003. Screening of 69 hot pepper lines for resistance against Cucumber Mosaic Virus by mechanical inoculation. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 22:111-114.
- Lefebvre, V., A Palloix, C. Caranta and E. Pochard. 1995. Construction of an intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled-haploid progenies. *Genome* 38: 112-121.
- Michelmore, R.W., I. Paran and R.V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulk segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:9828-9832.
- Sanghai-Maroo, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen, and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 36:186-192.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rivalski and S.V. Tingey. 1990. NA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res.* 18: 6531-6535.